脂多糖致炎时间对小鼠血液免疫与肠道组织形态的影响[1]

贾军峰　王梦竹　崔一喆*　王秋菊*　武　瑞

（黑龙江八一农垦大学动物科技学院，大庆　163319）

摘　要：本试验旨在通过给小鼠腹腔注射脂多糖（LPS），检测随着时间的推移小鼠血液细胞因子水平和肠道组织形态的变化。25 只雄性 ICR 小鼠经腹腔注射 LPS（5 mg/kg BW），在不同致炎时间[LPS 注射前(0 h)以及注射后 3、6、12、24、48 和 72 h]采血制备血清，通过酶联免疫吸附试验（ELISA）方法检测小鼠血清肠道碱性磷酸酶（IAP）活性及炎性细胞因子肿瘤坏死因子（TNF）-α、白细胞介素（IL）-1β、IL-4、IL-6 和 IL-8 的水平；同时采集小鼠十二指肠、空肠、回肠和盲肠样品，苏木精-伊红（HE）染色制作组织切片，观察各肠段病理学变化，并测量各肠段绒毛高度（VH）和隐窝深度（CD），计算 VH/CD。结果显示：血清 IAP 活性，促炎细胞因子 TNF-α、IL-6 和 IL-8 以及抗炎细胞因子 IL-4 的水平在 LPS 注射后 6 h 时达到高峰，随后下降；而血清促炎细胞因子 IL-1β的水平在 LPS 注射后 6 h 时略有升高，在注射后 48 h 时达高峰。与注射前（0 h）相比，LPS 致炎小鼠在 LPS 注射后 6 h 肠道病理变化比较明显，小鼠肠黏膜损伤明显，上皮脱落、绒毛破裂、黏膜萎缩、水肿、且绒毛较短；随着时间的推移，肠黏膜在 LPS 注射后 48 h 时已开始缓慢恢复。与注射前（0 h）相比，LPS 致炎小鼠十二指肠和空肠的 VH/CD 均在注射后 6 h 时出现显著后极显著下降（*P*<0.05 或 *P*<0.01），但在注射后 72 h 时已无显著差异（*P*>0.05）。由此得出，LPS（5 mg/kg BW）腹腔注射后 6 h 时小鼠血清促炎性细胞因子水平达到高峰，肠黏膜损伤明显，之后逐渐恢复正常。

关键词：脂多糖；肠道损伤；血液免疫；细胞因子；绒毛高度

中图分类号：S816.7　　文献标识码：　　文章编号：

脂多糖（LPS）是革兰氏阴性细菌外膜的组成部分，可导致细胞因子紊乱，从而引发心血管衰竭和血压不稳定，并最终导致致命性败血症综合征[1-2]。所以，监测 LPS 致炎疾病发展的动态变化对防控 LPS 感染是非常重要的。目前研究已经发现以促炎细胞因子作为生物标志物释放的分子，如白细胞介素（IL）-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α（TNF-α），在动物试验中会降低肠道的屏障功能[3]。通常可以通过比较健康动物与致炎动物之间的病理差异来寻找生物标志物[4]。目前，在研究炎症模型过程中，通常腹腔单次注射高剂量 LPS 可致急性炎症，此方法能引发肠道损伤，甚至导致全身的器官衰竭。间断注射低浓度 LPS 会引起促炎细胞因子的持续增高，引发炎症，但时间周期长。目前利用 LPS 复制炎症模型，不同的研究选取时间点及小鼠品系并不统一，且只对促炎因子（TNF-α、IL-6）进行测定，对其他炎性细胞因子（IL-1β、IL-4、IL-8）和肠道碱性磷酸酶（IAP）的测定较少[5-7]。研究表明，一些生物标志物在单一的时间点反映了重要的信息，但不能反映系统的动态变化[8]。因此，本试验通过腹腔注射 5 mg/kg BW LPS 致炎雄性 ICR 健康小鼠（体重 22~25 g），之后连续监测血液指标和肠黏膜变化情况，以全面了解在 LPS 给药后血液细胞因子、IAP 及肠道组织形态变化，为深入了解 LPS 对血液免疫和肠道组织形态随时间的变化的研究提供基础，为通过 LPS 建立肠道致炎模型提供合适的致炎时间。

收稿日期：2018-02-28

基金项目：中国博士后科学基金会“第十一批中国博士后科学基金”（2018T110320）；中国博士后科学基金项目（2017M620124）；黑龙江省自然科学基金项目（C2014444）；黑龙江八一农垦大学博士后校内启动项目（601038）；黑龙江八一农垦大学博士校内启动项目（XDB-2016-10）

作者简介：贾军峰（1995-），男，黑龙江双鸭山人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail：jiajunfeng2017@163.com

*通信作者：崔一喆，讲师，硕士生导师，E-mail： cuiyizhe1979@126.com；王秋菊，副教授，硕士生导师，E-mail： wqj_9@163.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

LPS（来源于大肠杆菌 O55：B5）和其他化学试剂均从 Sigma-Aldrich（美国）获得。蒸馏水通过来自 EMD Millipore Corporation（美国）的 Milli-Q 系统过滤获得。将 LPS 溶于生理盐水中并制成 20 mg/mL 的储存液保存。在注射 LPS 之前将动物称重，并且将 LPS 储备液稀释，以 5 mg/kg BW 的剂量对每只试验小鼠进行注射。

1.2 试验动物

雄性健康 ICR 小鼠，体重 22～25 g，购自哈尔滨医科大学动物实验中心，许可证号：SYXK（黑）2014005。饲养环境温度保持在（22±2） ℃，相对湿度保持在（50±10）%，试验期内自由饮水、采食。动物试验开始前先使小鼠习惯动物设施 1 周，动物试验按照《实验动物管理条例》（2017 年修订）执行。

1.3 试验设计和样品采集

选取 25 只小鼠，按照 5 mg/kg BW 的剂量腹腔注射稀释后的 LPS 溶液（0.5 mg/mL），每只小鼠注射量约为 0.2 mL。根据文献[9]选择时间点，在 LPS 注射前（0 h）和注射后 3、6、12、24、48 和 72 h 分别选出 3 只小鼠，通过沾有异氟烷的棉球将小鼠麻醉之后，对小鼠进行眼球采血，将血液样品 5 000 r/min 离心 10 min，吸取血清并于-80 ℃条件下储存待测。采血后，断颈处死小鼠，剖开腹腔，采集十二指肠、空肠、回肠及盲肠组织样品。每个肠段取中间部分 1～2 cm，灭菌生理盐水冲洗干净，置于 4%甲醛缓冲溶液中固定，以备制作切片。

1.4 炎性细胞因子水平及 IAP 活性的测定

使用市售试剂盒（Endogen，英国）通过酶联免疫吸附试验（ELISA）方法测定血清中炎性细胞因子水平及 IAP 活性。每次测定时，连续稀释血清 10～100 倍，以确保获得的值在每个试剂盒提供的标准线性范围内。每个来自同一小鼠的样品重复测定 2 次，并取平均值。

1.5 组织病理学测定

参照 Nabuurs 等[10]的方法，将甲醛固定好的小鼠肠道组织包埋在石蜡中，切成 4 μm 的切片，并用苏木精-伊红（HE）染色溶液染色，然后在光学显微镜下（放大 100 倍）观察染色的切片并照相。使用 Image Pro Plus 4 分析软件（Media Cybernetics，美国）处理和分析系统评估绒毛高度（VH）和隐窝深度（CD），并计算 VH/CD（V/C）。每个肠道样本至少测量 10 个数据，并计算平均值。

1.6 数据处理

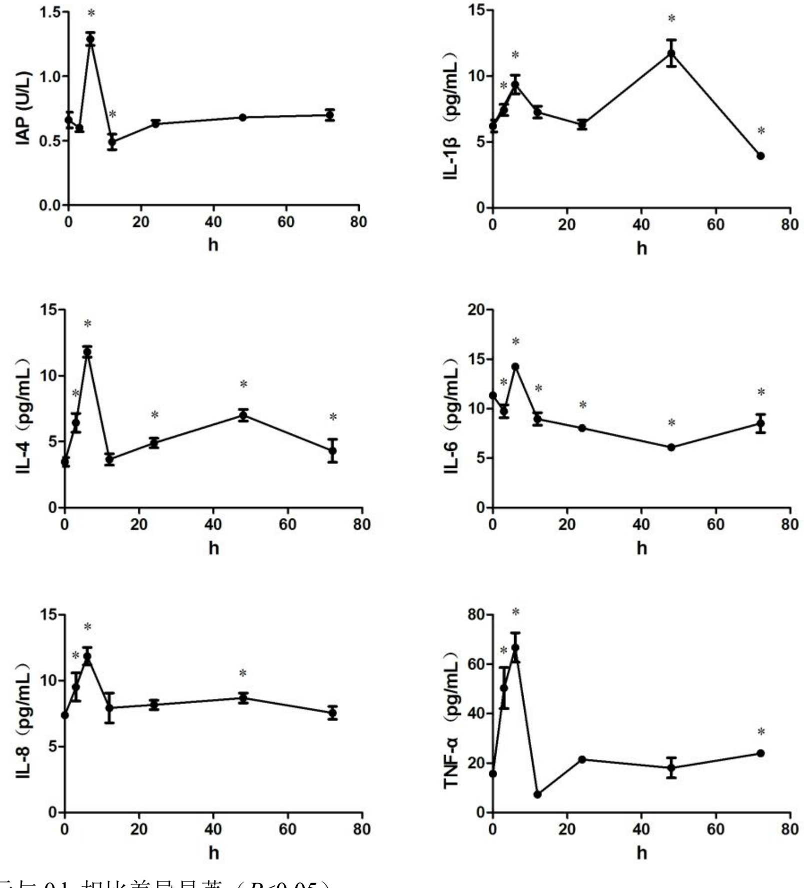
数据以平均值±标准差（mean±SD）表示，使用 SPSS 16.0 的 t 检验对注射前和注射后不同时间点的差异进行显著性分析，$P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 血清 IAP 活性和炎性细胞因子水平

给小鼠腹腔内注射 LPS 诱导肠黏膜炎症，在注射前（0 h）和注射后不同时间点（3、6、12、24、48 和 72 h）血清 IAP 活性以及促炎细胞因子（TNF-α、IL-1β、IL-6 和 IL-8）和抗炎细胞因子（IL-4）水平的变化见图 1。

图 1 显示，腹腔注射 LPS 后小鼠血清中 IAP 活性和炎性细胞因子的水平瞬时升高，但不同炎性细胞因子的反应时间模式不同。IAP，促炎细胞因子 TNF-α、IL-6 和 IL-8 以及抗炎细胞因子 IL-4 的水平在注射后 6 h 时达到高峰，随后下降；而促炎细胞因子 IL-1β的水平在注射后 6 h 时略有升高，在注射后 48 h 时达高峰。LPS 注射后 72 h 时，上述炎性细胞因子在血清中的水平降至正常水平。



“*”表示与 0 h 相比差异显著（P<0.05）。

“*” means significant difference compared with 0 h (P<0.05).

图 1 LPS 致炎小鼠血清中 IAP 活性和炎性细胞因子水平随时间的变化

Fig.1 Changes of serum IAP activity and inflammatory cytokine levels of LPS induced mice with time

2.2 肠道黏膜组织病理学改变

对小鼠的组织病理学分析显示，健康小鼠肠道黏膜的绒毛较长且比较完整（图 2）。与注射前（0 h）相比，LPS 致炎小鼠在 LPS 注射后 6 h 病理变化比较明显，小鼠肠道黏膜损伤明显，上皮脱落、绒毛破裂、黏膜萎缩、水肿、且绒毛较短；随着时间的推移，肠道黏膜在 LPS 注射后 48 h 时已开始缓慢恢复(图 2)。试验过程中观察发现所有 LPS 致炎小鼠在注射 LPS 30 min 后均产生内毒素血症症状，如嗜睡、竖毛、腹泻等，12 h 后逐渐恢复。由此可以推断，小鼠在 LPS 注射后 6 h 这段时间内损伤严重，之后病理组织开始恢复。

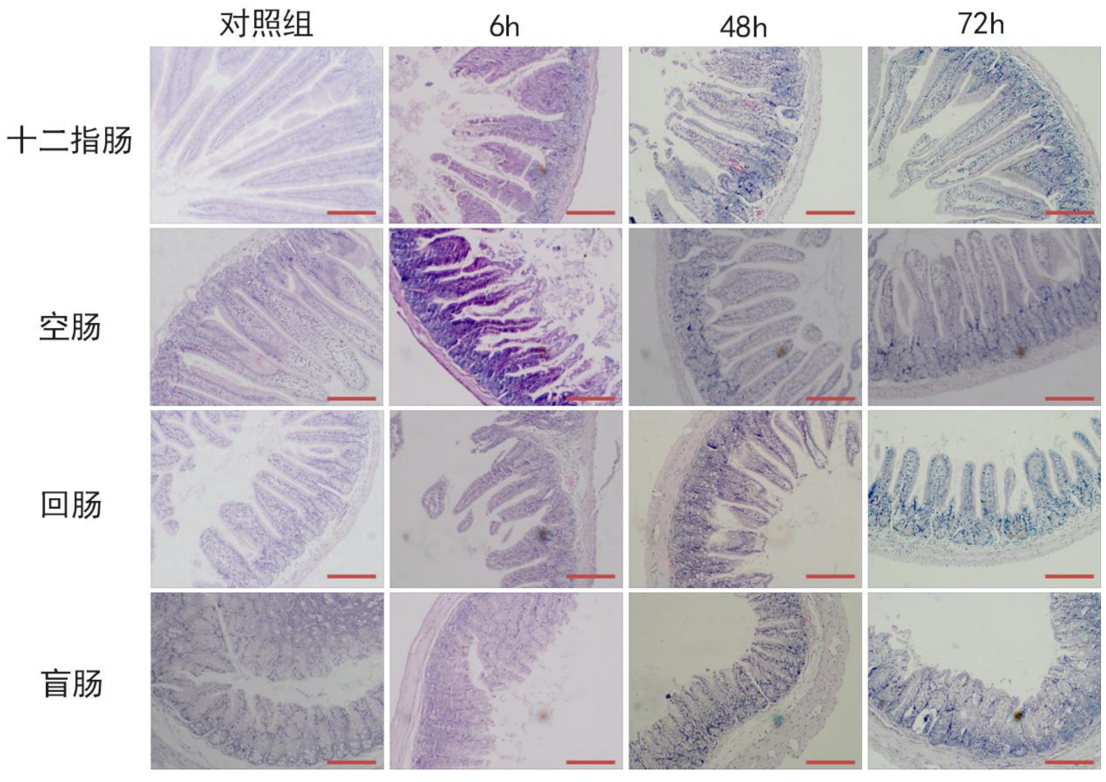


图 2　LPS 致炎小鼠肠道黏膜组织形态随时间的变化

Fig.2　Changes of intestinal mucosal tissue morphology of LPS induced mice with time

放大倍数：100 倍；比例尺：50 微米。

Magnification times: 100 times; scale: 50 μm.

2.3 肠道组织形态学分析

由表 1 可知，与注射前（0 h）相比，注射 LPS 的小鼠十二指肠 VH 在注射后 3（P<0.01）、6（P<0.01）、12（P<0.01）和 24 h（P<0.05）时显著或极显著降低，空肠的 VH 在注射后 12（P<0.05）和 24 h（P<0.01）时显著或极显著降低，回肠的 VH 在注射后 12 h（P<0.05）显著降低。与注射前（0 h）相比，注射 LPS 的小鼠十二指肠的 CD 注射后 6 h 极显著提高（P<0.05），空肠的 CD 在注射后 6（P<0.01）、12（P<0.01）、24（P<0.01）和 48 h（P<0.05）时显著或极显著提高，回肠的 CD 在注射后 12（P<0.01）、24（P<0.01）和 48 h（P<0.01）时极显著提高。与注射前（0 h）相比，注射 LPS 的小鼠十二指肠的 V/C 在注射后 3（P<0.01）、6（P<0.01）和 12 h（P<0.01）时极显著降低，空肠的 V/C 在注射后 3（P<0.05）、6（P<0.05）、12（P<0.01）、24（P<0.01）和 48 h（P<0.01）时显著或极显著降低，回肠的 V/C 在注射后 12（P<0.05）、24（P<0.05）和 48 h（P<0.05）时显著著降低。由此可以看出，LPS 可以降低 VH、增加 CD，从而使 V/C 迅速下降。但随着时间的延长，这种差异逐渐消失。

表 1 时间对小鼠十二指肠、空肠和回肠绒毛高度（VH）、隐窝深度（CD）和绒毛高度/隐窝深度（V/C）的影响

Table 1 Effects of time on villus height (VH), crypt depth (CD) and villus height/crypt depth (V/C) in duodenum, jejunum and ileum of mice

项目 Items	指标 Indices	时间 Time/h						
		0	3	6	12	24	48	72
十二指肠 Duodenum	VH/μm	292.50±35.65	201.25±14.51**	164.37±35.61**	186.25±15.07**	200.00±36.91*	245.00±25.00	257.50±18.60
	CD/μm	58.75±2.80	64.38±6.22	78.75±7.40**	66.88±12.30	61.25±11.39	59.38±13.04	58.13±3.25
	V/C	5.00±0.78	3.17±0.55**	2.10±0.50**	2.89±0.70**	3.48±1.46	4.35±.1.26	4.43±0.15
空肠 Jejunum	VH/μm	188.13±30.03	176.25±21.84	170.00±20.10	143.75±13.62*	71.88±24.01**	161.88±13.90	178.13±26.41
	CD/μm	36.88±7.15	45.00±3.95	51.25±6.73**	61.88±6.93**	58.13±5.96**	51.88±7.37*	43.75±5.45
	V/C	5.21±0.79	3.94±0.54*	3.41±0.83*	2.33±0.12**	1.28±0.56**	3.17±0.44**	4.16±1.08
回肠 Ileum	VH/μm	135.63±18.53	129.38±3.14	114.38±8.26	103.75±8.29*	110.63±19.83	120.00±.11.37	131.88±16.63
	CD/μm	42.50±9.35	44.38±5.69	45.00±4.33	71.88±2.07**	71.25±10.97**	66.88±5.96**	52.50±6.85
	V/C	3.36±1.10	2.96±0.42	2.58±0.48	1.44±0.07*	1.61±0.48*	1.81±0.30*	2.54±0.40

“*”表示与 0 h 相比有显著差异（P<0.05），**表示与 0 h 时相比有极显著差异（P<0.01）。

“*” means significant difference compared with 0 h (P<0.05), and “**” means extremely significant difference compared with 0 h (P<0.01).

.

3 讨　论

完整的功能性肠黏膜对健康和生存至关重要。作为病原体与肠道之间的主要介质，肠道内壁上皮细胞在防御病原体中发挥着重要作用[11]，而肠道上皮细胞的功能依赖于肠黏膜的稳态。越来越多的证据表明，肠上皮细胞和免疫系统之间的平衡维持着肠道的健康[12]。由细菌内毒素 LPS 触发的全身性炎症反应综合征（SIRS）影响许多器官并可能导致死亡[13]。有研究表明，间断注射低浓度 LPS 在第 4 周会导致慢性肠道炎症[14-15]。Xu 等[16]研究显示，LPS 处理后 3～12 h，脾脏常规树突状细胞及其亚群的抗原水平呈递逐渐增加，但在处理 18 h 后，这些物质的抗原水平迅速下降。宣国平等[17]研究发现，将 10 mg/kg BW LPS 经大鼠尾静脉注射 6 h 后可成功建立大鼠急性肺损伤模型。

IAP 通过将革兰氏阴性细菌内毒素 LPS 功能区结构蛋白上的磷酸基团水解，使 LPS 的致炎能力丧失，达到解毒的目的[18]。研究表明，*IAP* 在禁食期间不表达，并与增加的细菌移位和肠源性败血症有关[19]，且导致 LPS 去磷酸化活性降低[20]。基于这些观察，我们推测 IAP 在调节宿主对活性内毒素的反应中起一定作用。

最近研究表明，促炎细胞因子（TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8）参与促成了炎症性肠病（IBD）的持续存在和对组织的破坏[21]。其中 TNF-α是促成 IBD 的关键因素，其功能包括将循环炎性细胞聚集到炎症的局部组织部位，诱导水肿，参与凝血级联的激活和肉芽肿的形成[22]。通过抑制 TNF-α的表达来改善和缓解 IBD 症状的临床试验证明了 TNF-α在 IBD 发病机理中的促炎作用[23]。Caradonna 等[24]在 2018 年最新的研究显示，促炎细胞因子 IL-1β可以降低人类肠上皮细胞基因组的甲基化，却在促炎基因 *IL*-6 和 *IL*-8 启动子的 CG 特异位点诱导去甲基化，最终引起肠上皮细胞的炎症反应。而且 Pendharkar 等[25]在 2018 年最新的研究也表示促炎细胞因子（TNF-α、IL-1β、IL-6）的水平在发生胰腺炎症时显著升高。Yarur 等[26]的研究显示促炎细胞因子的释放是炎症通路被激活的直观表现，肠道炎症反应与促炎细胞因子 IL-6 的水平呈正相关。

抗炎细胞因子和促炎细胞因子平衡失调时，就会引起炎症并加剧[27]，LPS 进入机体后刺激肠道，引发天然免疫系统应答，造成肠道炎症，导致促炎细胞因子 IL-1β、IL-6 等细胞因子的分泌量急剧增加，在注射后 6 h 时达到峰值，而后随着时间的推移，释放量慢慢趋于稳定。LPS 致炎模型的建立受不同的给药方式、动物种系、LPS 暴露时间等的影响。通过查阅文献，确定腹腔注射能够引起明显的病理指标变化，且用此方法可以在较短的时间内得到肠致炎模型[28]，在此基础上，本试验通过设置不同的时间梯度，以筛选出适合的致炎时间[29]。结果表明，给小鼠腹膜注射 LPS 引起了肠黏膜炎症，其表现在于血清促炎细胞因子水平的升高，与此同时，由于机体内负反馈调节的存在，血清抗炎细胞因子 IL-4 的水平也会随着促炎细胞因子的大量释放而稍有升高。血清炎性细胞因子水平的时间过程分析表明，这些炎性细胞因子的水平在注射后 6 h 时达到高峰，然后逐渐下降，并在注射后 72 h 时回到基线，与理论结果相似。由此可知，炎症细胞因子与肠黏膜损伤的全过程有关，可作为肠黏膜损伤发病和发展的重要标志[30]。由本试验结果可以看出，LPS 注射 6 h 后肠道变化最明显，因此，在建立 LPS 致炎或介导疾病模型时，应以注射后 6 h 为最佳时间段，此时血清中炎性细胞因子的水平变化较大。本试验中促炎细胞因子的大量释放说明 LPS 刺激肠道可使胃肠黏膜上皮组织通透性增加，引发炎症反应，造成一系列的非机械性损伤，如图 2 所示，在 LPS 注射后 6 h 时各肠段黏膜严重损伤，绒毛破裂，随后肠黏膜开始缓慢恢复。

肠道黏膜的 VH 和 CD 与动物消化情况有密切关系[31]，检测 VH 和 CD 可以判断肠道黏膜损伤的程度和修复的能力[32]。例如，腹泻发生率的降低伴随着十二指肠和回肠 VH 的增加以及十二指肠 CD 的降低[33]。本试验结果表明，LPS 处理可使小鼠肠道黏膜 VH 降低、CD 提高。绒毛萎缩可能是由细胞凋亡率增加或细胞更新率降低引起的[34]。VH 和 CD 决定了绒毛的表面状况，从而影响肠道的消化吸收功能[35]。小肠绒毛上皮处于不断更新的状态，在

正常情况下具有很强的增殖和修复能力。损伤的绒毛可以在 24 h 内修复以维持绒毛的正常组织结构[36]。

在本次研究中，我们观察到肠道组织的总体形态学变化，包括上皮细胞脱落、凋亡、绒毛破裂融合、黏膜萎缩、水肿等形态学改变。这些组织学损伤表明肠道屏障功能受损，可能导致渗透性增加。然而，肠黏膜损伤在 LPS 注射 48 h 后开始恢复，LPS 注射 12 h 后血清细胞因子水平开始降低。

4 结　论

综上所述，小鼠按每千克体重腹腔注射 5 mg LPS 诱导 6 h 时可产生最严重肠炎，之后逐渐恢复正常。

参考文献：

[1] ZIPFEL C.A new receptor for LPS[J].Nature Immunology,2015,16(4):340–341.

[2] ANDERSON S T,COMMINS S,MOYNAGH P N,et al.Lipopolysaccharide-induced sepsis induces long-lasting affective changes in the mouse[J].Brain,Behavior,and Immunity,2015,43:98–109.

[3] BRUEWER M,LUEGERING A,KUCHARZIK T,et al.Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms[J].The Journal of Immunology,2003,171(11):6164–6172.

[4] KRIVOV S V,FENTON H,GOLDSMITH P J,et al.Optimal reaction coordinate as a biomarker for the dynamics of recovery from kidney transplant[J].PLoS Computational Biology,2014,10(6):e1003685.

[5] 黄建华,李理,袁伟锋,等.脂多糖经不同给药方式致急性肺损伤小鼠模型的比较研究[J].中国呼吸与危重监护杂志,2013,12(3):264–268.

[6] 李琦,钱桂生,张青,等.不同剂量脂多糖对大鼠急性肺损伤效应的观察[J].第三军医大学学报,2004,26(10):871–873.

[7] 陶一帆,田方敏,郭向阳,等.不同剂量脂多糖在不同作用时间下诱导小鼠急性肺损伤的效果评价[J].中国中西医结合急救杂志,2015(2):142–146.

[8] ZHANG W J,ZHOU L A,YIN P Y,et al.A weighted relative difference accumulation algorithm for dynamic metabolomics data:long-term elevated bile acids are risk factors for hepatocellular carcinoma[J].Scientific Reports,2015,5:8984.

[9] LIAO Z L,DONG J J,WU W,et al.Resolvin D1 attenuates inflammation in lipopolysaccharide-induced acute lung injury through a process involving the PPARγ/NF-κB

pathway[J].Respiratory Research,2012,13:110.
[10] NABUURS M J A,HOOGENDOORN A,VAN DER MOLEN E J,et al.Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs,reared under various circumstances in the Netherlands[J].Research in Veterinary Science,1993,55(1):78–84.
[11] QIAN X X,PENG J C,XU A T,et al.Noncoding transcribed ultraconserved region (T-UCR) uc.261 participates in intestinal mucosa barrier damage in Crohn’s disease[J].Inflammatory Bowel Diseases,2016,22(12):2840–2852.
[12] MALOY K J,POWRIE F.Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease[J].Nature,2011,474(7351):298–306.
[13] MENDES S J,SOUSA F I A B,PEREIRA D M S,et al.Cinnamaldehyde modulates LPS-induced systemic inflammatory response syndrome through TRPA1-dependent and independent mechanisms[J].International Immunopharmacology,2016,34:60–70.
[14] 邓家刚,阎莉,卫智权,等.间断注射小剂量脂多糖建立大鼠的慢性炎症模型[J].华西药学杂志,2012,27(3):289–291.
[15] ALVARENGA E M,SOUZA L K M,ARAÚJO T S L,et al.Carvacrol reduces irinotecan-induced intestinal mucositis through inhibition of inflammation and oxidative damage via TRPA1 receptor activation[J].Chemico-Biological Interactions,2016,260:129–140.
[16] XU L,KWAK M,ZHANG W,et al.Time-dependent effect of *E. coli* LPS in spleen DC activation *in vivo*:alteration of numbers,expression of co-stimulatory molecules,production of pro-inflammatory cytokines,and presentation of antigens[J].Molecular Immunology,2017,85:205–213.
[17] 宣国平,张琳,钟明媚.脂多糖致大鼠急性肺损伤模型取材时间选择[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(2):136–138.
[18] BILSKI J,MAZUR-BIALY A,WOJCIK D,et al.The role of intestinal alkaline phosphatase in inflammatory disorders of gastrointestinal tract[J].Mediators Inflammation,2017,2017:9074601.
[19] MALO M S,MOAVEN O,MUHAMMAD N,et al.Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver

Physiology,2014,306(10):G826–G838.

[20] HAMARNEH S R,MOHAMED M M,ECONOMOPOULOS K P,et al.A novel approach to maintain gut mucosal integrity using an oral enzyme supplement.[J].Annals of Surgery,2014,260(4):706–715.

[21] MOLDOVEANU A C,DICULESCU M,BRATICEVICI C F.Cytokines in inflammatory bowel disease[J].Romanian Journal of Internal Medicine,2015,53(2):118–127.

[22] ALLOCCA M,BONIFACIO C,FIORINO G,et al.Efficacy of tumour necrosis factor antagonists in stricturing Crohn’s disease:a tertiary center real-life experience[J].Digestive and Liver Disease,2017,49(8):872–877.

[23] NAKAMURA K,HONDA K,MIZUTANI T,et al.Novel strategies for the treatment of inflammatory bowel disease:selective inhibition of cytokines and adhesion molecules[J].World Journal of Gastroenterology,2006,12(29):4628–4635.

[24] CARADONNA F,CRUCIATA I,SCHIFANO I,LA ROSA C,et al.Methylation of cytokines gene promoters in IL-1β-treated human intestinal epithelial cells[J].Inflammation Research,2018,67(4):327–337.

[25] PENDHARKAR S A,SINGH R G,CHAND S K,et al.Pro-inflammatory cytokines after an episode of acute pancreatitis:associations with fasting gut hormone profile[J].Inflammation Research,2018,67(4):339–350.

[26] YARUR A J,JAIN A,QUINTERO M A,et al.Inflammatory cytokine profile in crohn's disease nonresponders to optimal antitumor necrosis factor therapy[J].Journal of Clinical Gastroenterology,2018,doi:10.1097/MCG.0000000000001002.

[27] 赵婵娟.清温消热饮对小鼠 LPS 致炎模型血清中炎性因子的影响[J].中国兽药杂志,2017,51(1):41–45.

[28] 梁锦屏,王琳琳,周娅.内毒素致肝损伤小鼠模型相关指标的动态变化[J].宁夏医学杂志,2007,29(8):678–680.

[29]张祺嘉钰,孙毅,胡锐,等.内毒素不同给药途径致急性肺损伤模型的研究[J].现代中医药,2013,33(1):79–81.

[30] BAMIAS G,ARSENEAU K O,COMINELLI F.Cytokines and mucosal immunity[J].Current Opinion in Gastroenterology,2014,30(6):547–552.

[31] YANG H S,FEI W U,LONG L N,et al.Effects of yeast products on the intestinal morphology,barrier function,cytokine expression,and antioxidant system of weaned piglets[J].Journal of Zhejiang University-Science B:Biomedicine & Biotechnology,2016,17(10):752–762.

[32] DONG Y,YANG C,WANG Z,et al.The injury of serotonin on intestinal epithelium cell renewal of weaned diarrhoea mice[J].European Journal of Histochemistry,2016,60(4):2689.

[33] ZHU C,LV H,CHEN Z,et al.Dietary zinc oxide modulates antioxidant capacity,small intestine development,and jejunal gene expression in weaned piglets[J].Biological Trace Element Research,2017,175(2):331–338.

[34] RUBIN D C,LEVIN M S.Mechanisms of intestinal adaptation[J].Best Practice & Research Clinical Gastroenterology,2016,30(2):237–248.

[35] YERUVA L,SPENCER N E,SARAF M K,et al.Formula diet alters small intestine morphology,microbial abundance and reduces VE-cadherin and IL-10 expression in neonatal porcine model[J].BMC Gastroenterology,2016,16:40.

[36] WANG J Y,JOHNSON L R.Induction of gastric and duodenal mucosal ornithine decarboxylase during stress[J].American Journal of Physiology,1989,257(2Pt1):G259–G265.

Effects of Lipopolysaccharide Inflammation Time on Blood Immunity and Intestinal Morphology of Mice

JIA Junfeng WANG Mengzhu CUI Yizhe* WANG Qiuju* WU Rui

(*College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing* 163319*, China*)

Abstract: This experiment was conducted to detect the changes in blood cytokine levels and intestinal tissue morphology of mice by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS). Twenty-five male ICR mice were intraperitoneally injected with LPS (5 mg/kg BW), and the blood were sampled to prepare serum at different time of inflammation [before LPS injection (0 h) and 3, 6, 12, 24, 48 and 72 h after injection]. The activity of intestinal alkaline phosphatase (IAP) and the levels of inflammatory cytokine, such as tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β, IL-4, IL-6 and IL-8 in serum of mice were detected by enzyme-linked immunosorbent

*Corresponding authors: CUI Yizhe, lecturer, E-mail： cuiyizhe1979@126.com; WANG Qiuju, associate professor, E-mail： wqj_9@163.com (责任编辑 菅景颖)

assay (ELISA) method. The samples of duodenum, jejunum, ileum and cecum were collected from the mice and hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe the pathological changes of each intestinal segment. The villous height (VH) and crypt depth (CD) in each intestinal segment were measured and the VH/CD was calculated. The results showed as follows: As time progressed, the activity of serum IAP and the levels of serum pro-inflammatory cytokines TNF-α, IL-6 and IL-8, and anti-inflammatory cytokines IL-4 peaked at 6 h after LPS injection, and then decreased continuously. The levels of IL-1β, a pro-inflammatory cytokine, increased slightly at 6 h after LPS injection and peaked at 48 h after injection. Compared with before LPS injection (0 h), the intestinal pathological changes of LPS-induced mice at 6 h after LPS injection were obvious. The mucous membranes of intestine were damaged, the epithelium was detached, the villus was broken, the mucous membranes were atrophic, edema, and the villus was short; over time, intestinal mucosa had slowly recovered at 48 h after LPS injection. Compared with before LPS injection (0 h), VH/CD in the duodenum and jejunum of LPS-inflamed mice were significantly decreased at 6 h after injection (P<0.05 or P<0.01); however, there was no significant difference at 72 h after injection (P>0.05). It is concluded that the levels of serum pro-inflammatory cytokines peaked at 6 h after intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg BW), intestinal mucosal damage is obvious, and gradually returns to normal afterwards.

Key words: lipopolysaccharide; intestine damage; blood immunity; cytokines; villus height